

# **BAB I**

## **PENDAHULUAN**

### **A. Latar Belakang Masalah**

Penyakit infeksi masih merupakan masalah utama kesehatan masyarakat di negara sedang berkembang seperti di Indonesia. Pada tahun 1990, misalnya di antara 39,5 juta kematian di negara berkembang, lebih dari 25% atau sekitar 9,2 juta disebabkan oleh penyakit infeksi dan penyakit yang disebabkan oleh parasit (Dwiprahasto, 2005).

Infeksi didefinisikan sebagai proses dimana seorang hospes yang rentan dimasuki oleh agen-agen patogen (infeksius) yang tumbuh dan memperbanyak diri, menyebabkan bahaya pada hospes. Pasien-pasien dalam lingkungan kesehatan seperti di rumah sakit dan fasilitas perawatan jangka panjang hampir merupakan hospes yang rentan terhadap timbulnya infeksi (Scaffer, D.S., 2000).

Infeksi disebabkan oleh berbagai mikroorganisme, salah satunya adalah bakteri (Gibson, 1996). Secara garis besar bakteri di bedakan berdasarkan hasil pengecatan Gram, yaitu bakteri Gram positif dan bakteri Gram negatif. Bakteri Gram positif terutama dari kokus, banyak dijumpai sebagai penyebab penyakit piogenik, sedangkan bakteri Gram negatif batang berpotensi penyebab infeksi nosokomial (Josodiwondo, dkk.,1996).

Penelitian yang dilakukan oleh Kurniawan (2004), terhadap pola kuman yang didapatkan dari infeksi luka paska tindakan bedah dari pasien di Rumah Sakit Pandan Arang Boyolali, mendapatkan hasil bahwa pola kuman yang didapat

sebagian besar adalah kuman Gram positif 87,5% dan sisanya adalah kuman Gram negatif 12,5 %. Kuman Gram positif terdiri atas *Staphylococcus aureus* (33,33%), *Staphylococcus saprofiticus* (33,33%), dan *Bacillus* Sp (22,22%). Sedangkan satu-satunya kuman Gram negatif yang ditemukan adalah *E. coli*.

*Staphylococcus aureus* adalah patogen utama pada manusia. Hampir semua orang pernah mengalami berbagai macam infeksi *Staphylococcus aureus* selama hidupnya, dari keracunan makanan yang berat atau infeksi kulit yang kecil, sampai infeksi yang tidak bisa disembuhkan (Jawetz, dkk., 2001). *Staphylococcus aureus* adalah penyebab tersering infeksi piogenik (pembentuk nanah) dan menyebabkan beragam infeksi yang meliputi bisul, abses, jari septik, *style*, impetigo, dan mata lengket pada neonatus. Di rumah sakit, *Staphylococcus aureus* menyebabkan infeksi luka yang serius, bronkopneumonia, osteomielitis, dan endokarditis (Gould dan Brooker, 2003).

Pengobatan penyakit infeksi dengan antibiotik merupakan salah satu penemuan besar dalam dunia kedokteran. Sejarah telah mencatat kerusakan-kerusakan hebat yang disebabkan oleh agen infeksi yang jumlahnya relatif sedikit. Kerusakan yang hampir memusnahkan atau mengurangi jumlah populasi bakteri (Corcoran dan Shulman, 1994).

Bakterimia, endokarditis, pneumonia dan infeksi berat lainnya yang disebabkan oleh *Staphylococcus aureus* biasanya memerlukan terapi antibiotik, terutama antibiotik yang sering digunakan adalah penisilin (Jawetz, dkk., 2001). Namun dari hasil penelitian pada tahun 2005 didapatkan hasil bahwa 80% *Staphylococcus aureus* resisten terhadap penisilin (Ristanto, 2005).

Resistensi bakteri terhadap antibiotik adalah pertumbuhan bakteri yang tidak terhambat atau tidak dapat dimatikan oleh antibiotika pada konsentrasi obat yang tercapai dalam tubuh setelah dosis terapeutik (Gould dan Brooker, 2003). Penggunaan antibiotik yang berlebihan dan tidak tepat telah memotori peningkatan dan kemunculan patogen-patogen resisten terhadap berbagai obat (Katzung, 2004).

Resistensi mikroba sangat bervariasi dari tahun ke tahun. Angka resistensi untuk satu macam bakteri terhadap antibiotika tertentu menunjukkan persentase yang berbeda antara lain: satu negara dengan negara lain, satu kota dengan kota lain dalam negara, antar rumah sakit dan rumah sakit lain dalam kota, dan bahkan antar satu unit dan unit lain dalam rumah sakit (Ristanto, 2005).

Diagnosis yang pasti dari penyakit infeksi dapat dilakukan dengan isolasi dan pengenalan agen infeksi spesifik (Corcoran dan Shulman, 1994). Menguji bakteri patogen secara *in vitro* untuk mengetahui sensitivitas bakteri terhadap agen-agen antimikroba sangat penting untuk membuktikan sensitivitasnya. Spesimen-spesimen yang diperoleh dan diproses dengan benar untuk dilakukan uji kultur sering kali menghasilkan informasi yang dapat dipercaya mengenai penyebab infeksi (Katzung, 2004).

Bahan untuk pemeriksaan laboratorium *Staphylococcus aureus* dapat diambil dari sampel nanah (pus). Sediaan harus dibuat dari sampel dan dilakukan pewarnaan Gram. Perbenihan bakteri bisa dilakukan pada lempeng agar darah dan perbenihan lainnya untuk identifikasi bakteri (Entjang, 2003).

Berdasarkan latar belakang tersebut maka perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui sensitivitas *Staphylococcus aureus* dari pus pasien di Rumah Sakit Islam Surakarta terhadap beberapa antibiotik, terutama untuk antibiotik imipenem, siprofloksasin, gentamisin, sefotaksim, dan oksasilin yang merupakan antibiotik yang direkomendasikan untuk mengobati penyakit akibat infeksi *Staphylococcus aureus*. Sehingga dapat diperoleh informasi jenis antibiotik yang masih tepat dan efektif untuk pengobatan penyakit infeksi yang disebabkan oleh *Staphylococcus aureus*.

### **B. Perumusan Masalah**

Berdasarkan latar belakang tersebut maka dapat dirumuskan permasalahan bagaimana sensitivitas *Staphylococcus aureus* yang diisolasi dan diidentifikasi dari pus pasien di Rumah Sakit Islam Surakarta terhadap antibiotik imipenem, siprofloksasin, gentamisin, sefotaksim, dan oksasilin.

### **C. Tujuan Penelitian**

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui sensitivitas *Staphylococcus aureus* yang diisolasi dan diidentifikasi dari pus pasien di Rumah Sakit Islam Surakarta terhadap antibiotik imipenem, siprofloksasin, gentamisin, sefotaksim, dan oksasilin.

## D. Tinjauan Pustaka

### 1. Bakteri

Bakteri adalah prokariot, DNANYA tidak terletak di dalam nukleus. Banyak bakteri mengandung lingkaran DNA ekstrakromosomal yang dinamakan plasmid. Di dalam sitoplasma tidak terdapat organel lain selain ribosom, yang berukuran lebih kecil dibandingkan sel-sel eukariotik. Bakteri selain mikoplasma, dikelilingi oleh suatu dinding sel kompleks, yang berbeda antara bakteri Gram positif dan Gram negatif. Banyak bakteri memiliki flagella, pili atau kapsul eksternal pada dinding sel (Hart and Shears, 2004).

Struktur bakteri adalah sebagai berikut :

#### a. Membran sel

Membran sel atau membran sitoplasma tersusun atas protein dan fosfolipid, tidak tersusun atas sterol seperti pada eukariot (kecuali *Mycoplasma*). Membran sel melindungi bakteri dari tekanan osmotik sel dan lingkungannya, dan juga memiliki fungsi penting lainnya seperti transport elektron, sistem enzim (pada eukariot menggunakan mitokondria), dan proses transport.

#### b. Dinding sel

Dinding sel memiliki beberapa fungsi seperti melindungi membran sel dari rigid akibat tekanan osmotik dan mekanik, sebagai tempat antigen, faktor virulensi bakteri dan endotoksin, dan juga membentuk antibodi pada hospes.

c. Kapsul

Kebanyakan bakteri memiliki kapsul untuk melindungi dinding selnya, terutama pada kondisi yang tidak menguntungkan; seperti lapisan mukosa polisakarida yang mungkin hilang saat dilakukan kultur di laboratorium. Dalam proses infeksi, kapsul akan melindungi bakteri dari fagositosis oleh sel darah putih dan membantu perlekatan pada jaringan.

d. Fili

Fili (fimbria) menyerupai rambut dan memiliki dua tipe yaitu *sex pili* yang merupakan struktur khas yang memungkinkan terjadinya transfer DNA melalui proses konjugasi dan *Common pili* yang memiliki ukuran lebih pendek dan membantu dalam perlekatan pada sel hospes, pili akan mencegah terjadinya fagositosis dan membantu menghindar dari respon antibodi hospes.

e. Flagel

Flagel memiliki ukuran lebih panjang dari pada fili dan menyebabkan motilitas pada bakteri, flagel dapat berupa monotrik (satu flagel pada satu sisi atau kedua sisinya), lopotrik (banyak flagel pada satu sisi atau keduanya), peritrik (terdapat di semua sisi permukaan).

f. Spora

Spora biasanya terbentuk pada bakteri tertentu seperti *Clostridium* dan *Basillus* spp., dapat melindungi DNA bakteri dari keadaan yang tidak menguntungkan dengan membentuk lapisan yang padat.

(Spicer, 2000)

## 2. *Staphylococcus aureus*

Klasifikasi *Staphylococcus aureus* adalah sebagai berikut:

Divisio	: Protophyta
Subdivisio	: Schizomycetea
Classis	: Schizomycetes
Ordo	: Eubacteriales
Familia	: Micrococcaceae
Genus	: Staphylococcus
Spesies	: <i>Staphylococcus aureus</i> (Salle, 1961).

Stafilokokus merupakan Gram positif berbentuk bulat biasanya tersusun dalam bentuk kluster yang tidak teratur seperti anggur. Stafilokokus tumbuh dengan cepat pada beberapa tipe media dan dengan aktif melakukan metabolisme, melakukan fermentasi karbohidrat dan menghasilkan bermacam-macam pigmen dari putih hingga kuning gelap. Stafilokokus yang patogen sering menghemolisa darah, mengkoagulasi plasma dan menghasilkan berbagai enzim ekstraseluler dan toksin (Jawetz, dkk., 2001).

Stafilokokus mudah tumbuh pada berbagai media bakteriologik di bawah suasana aerobik atau mikroaerobik. Stafilokokus tumbuh paling cepat pada suhu kamar 37<sup>0</sup> C, namun pembentukan pigmen yang terbaik pada suhu kamar (20-35<sup>0</sup>C) dan pada media dengan pH 7,2-7,4. Koloni pada media padat berbentuk bulat, lembut, dan mengkilat (Jawetz, dkk., 2001).

Stafilokokus berbentuk sferis, bila menggerombol dalam susunan tidak teratur mungkin sisinya agak rata karena tertekan. Diameter kuman antara 0,8-

1,0 mikron. Pada sediaan langsung yang berasal dari nanah, stafilocokus dapat terlihat sendiri, berpasangan, bergerombol, atau bahkan dapat tersusun seperti rantai pendek. Susunan gerombolan yang tidak teratur biasanya ditemukan dalam sediaan yang dibuat dari perbenihan padat, sedangkan dari perbenihan kaldu biasanya ditemukan tersendiri, atau tersusun sebagai rantai pendek (Warsa, 1994).

### 3. Toksin dan Enzim Stafilocokus

Stafilocokus dapat menyebabkan penyakit berkat kemampuannya melakukan pembelahan sel dan menyebar luas ke dalam jaringan dan melalui produksi beberapa bahan ekstraseluler. Beberapa dari bahan tersebut adalah enzim, yang lain dapat berupa toksin:

- a. Katalase : stafilocokus menghasilkan katalase, yang mengubah hidrogen peroksida menjadi air dan oksigen. Tes katalase ini digunakan untuk membedakan stafilocokus positif dan streptokokus negatif.
- b. Koagulase : *Staphylococcus aureus* menghasilkan koagulase, yang merupakan protein yang menyerupai enzim, yang mampu menggumpalkan plasma jika ditambah dengan oksalat atau sitrat dengan adanya suatu yang terdapat serum.
- c. Enzim lain: enzim lain yang dihasilkan stafilocokus adalah hialuronidase, atau faktor penyebaran. Stafilokinase juga bekerja sebagai fibrinolisis, yang lain meliputi proteinase, lipase dan beta-laktamase.



- d. Eksotoksin : meliputi beberapa toksin yang bersifat letal jika disuntikan pada binatang, menyebabkan nekrosis pada kulit, dan berisi larutan hemolisis yang dapat dipisahkan dengan elektroforesis.
- e. Leukosidin : toksin *Staphylococcus aureus* ini dapat membunuh sel darah putih pada binatang. Peran toksin dalam patogenesis tidak jelas, karena stafilocokus yang patogenik tidak dapat membunuh sel darah putih, dan dapat difagositosis seperti non patogenik. Namun stafilocokus yang patogenik mampu melakukan multifikasi intraseluler, dimana mikroorganisme non patogenik cenderung mati di dalam sel.
- f. Toksin eksofilatif : termasuk toksin *Staphylococcus aureus* yang menghasilkan sedikitnya dua protein deskuamasi generalisata pada *Staphylococcal Scalded Skin Syndrom*. Antibodi spesifik akan melindungi dari adanya toksin eksofilatif.
- g. Toksin sindrom syok toksik (*Toxic shock syndrome toxin*): sebagian besar *Staphylococcus aureus* diisolasi dari pasien sindrom syok toksik yang menghasilkan racun yang dinamakan *Toxin Shock Syndrome Toxin-1* (TSST-1). TSST-1 merupakan prototip superantigen yang mendukung manifestasi sindrom syok toksik.
- h. Enterotoksin : adalah superantigen yang berikatan dengan molekul MHC kelas II, menimbulkan stimulasi sel T. Enterotoksin stabil terhadap panas (bertahan pada air mendidih selama 30 menit) dan resisten terhadap aksi enzim usus. Penyebab penting pada keracunan makanan, enterotoksin

dihasilkan ketika *Staphylococcus aureus* tumbuh pada makanan yang mengandung karbohidrat dan protein (Jawetz, dkk., 2001).

#### 4. Infeksi Stafilocokus

Infeksi didefinisikan sebagai proses dimana seorang hospes yang rentan dimasuki oleh agen-agen patogen (infeksius) yang tumbuh dan memperbanyak diri, menyebabkan bahaya pada hospes. Agen-agen infeksius utamanya adalah virus, bakteri, riketsia, jamur, dan parasit (Scaffer, D.S., 2000).

Infeksi terjadi apabila mikroorganisme yang masuk ke dalam tubuh menyebabkan berbagai gangguan fisiologis normal tubuh, sehingga timbul penyakit infeksi. Setelah mikroorganisme penginfeksi kontak dengan tubuh tuan rumah yang terinfeksi, akan menimbulkan infeksi lokal terutama pada lokasi tempat masuk/kontaknya dan dapat pula menjalar atau menyebar dalam tubuh yang menimbulkan berbagai gangguan fisiologis (Wattimena, 1991).

Patogenitas infeksi bakteri meliputi permulaan awal dari proses infeksi hingga mekanisme timbulnya tanda dan gejala penyakit. Ciri-ciri bakteri patogen yaitu kemampuan untuk menularkan, melekat pada sel inang, menginvasi sel inang dan jaringan, maupun untuk meracuni, dan mampu untuk menghindar dari sistem kekebalan inang. Beberapa infeksi yang disebabkan oleh bakteri yang secara umum dianggap patogen tidak menampilkan gejala atau asimtomatik. Penyakit terjadi jika bakteri atau reaksi imunologi yang ditimbulkannya menyebabkan suatu bahaya bagi seseorang (Jawetz, dkk., 2001).

Stafilokokus dapat memasuki sirkulasi darah melalui luka kulit atau abses dan disebarkan ke berbagai tempat. Antara lain dapat menimbulkan abses dalam sumsum tulang (osteomielitis), pada jaringan pembungkus tulang (periostitis), dalam hati atau limpa, pelvis ginjal (pielonefritis), atau otak (meningitis atau ensefilitis). Bila terjadi septisemia, dapat berakhir fatal. Yang lebih mudah terkena adalah yang rentan seperti lansia atau yang sangat muda, pasien bedah dan kebidanan, pasien dengan penyakit paru, pasien dengan gangguan fungsi ginjal atau kandung kemih (terutama yang memerlukan pemasangan kateter), pasien diabetes melitus, pasien jantung yang memerlukan kateterisasi, atau bedah jantung (Tambayong, 2000).

Manifestasi klinik penting yang disebabkan oleh *Staphylococcus aureus* dapat dibagi menjadi dua kelompok yaitu penyakit piogenik dan penyakit yang ditimbulkan adanya racun (toksin) yang dihasilkan *Staphylococcus aureus*.

a. Penyakit Piogenik

- a) Infeksi kulit merupakan infeksi yang paling umum terjadi. Yang termasuk infeksi tersebut adalah impetigo, *Furuncles*, radang di bawah kulit (bisul), *paronychia*, cellulitis, infeksi luka bedah, infeksi kelopak mata (*blepharitis*), *mastitis*.
- b) Septisemia (sepsis) diawali dari lesi lokal, terutama luka yang terinfeksi, atau akibat dari kesalahan pemakaian obat secara intravena. Sepsis yang disebabkan oleh *Staphylococcus aureus* memiliki ciri

klinis yang sama seperti sepsis yang disebabkan oleh bakteri Gram negatif seperti *Neisseria meningitides*.

- c) Endokarditis dapat terjadi pada normal atau katup jantung prostetik, khususnya endokarditis sebelah kanan (katup trikuspidalis) pada pemakaian obat secara intravena.
  - d) Osteomielitis dan artritis dapat ditimbulkan melalui melebarnya hematogenous dari jarak infeksi atau dari titik awal terjadinya luka. *Staphylococcus aureus* adalah penyebab paling sering terjadinya penyakit osteomielitis, khususnya pada anak-anak.
  - e) Luka paska operasi adalah yang berperan penting terhadap timbulnya mordibilitas dan mortilitas di rumah sakit. Sebagian besar infeksi ini disebabkan oleh *Staphylococcus aureus*.
  - f) Pneumonia dapat terjadi pada pasien paska operasi atau karena infeksi saluran pernafasan yang disebabkan oleh virus, khususnya influenza.
  - g) Abses terjadi di beberapa organ yang menjadi sirkulasi organisme dalam sirkulasi darah (bakterimia). Abses tersebut sering dinamakan “metastatik abses” karena terjadi melalui penyebaran bakteri dari tempat aslinya.
- b. Penyakit yang disebabkan Toksin
- a) Keracunan makanan disebabkan oleh adanya enterotoksin yang masuk bersama makanan, dan mengalami inkubasi dalam waktu yang singkat (1-8 jam). Pada keracunan makanan oleh stafilokokus, terjadi muntah atau lebih jelasnya terjadi diare.

- b) *Toxin Shock Syndrom* mempunyai karakteristik demam, hipotensi. Menyerang tiga atau lebih organ seperti : hati, ginjal, saluran gastrointestinal, sistem saraf pusat, otot, dan darah.
- c) *Scalded Skin Syndrome* dicirikan dengan timbulnya demam, *large bullae*, dan *erythematous macular rash*. Dapat mengakibatkan sebagian besar area kulit mengelupas, mengeluarkan eksudat, dan ketidakseimbangan elektrolit. Sindrom ini biasanya terjadi pada anak-anak (Levinson, 2004).

## 5. Pus

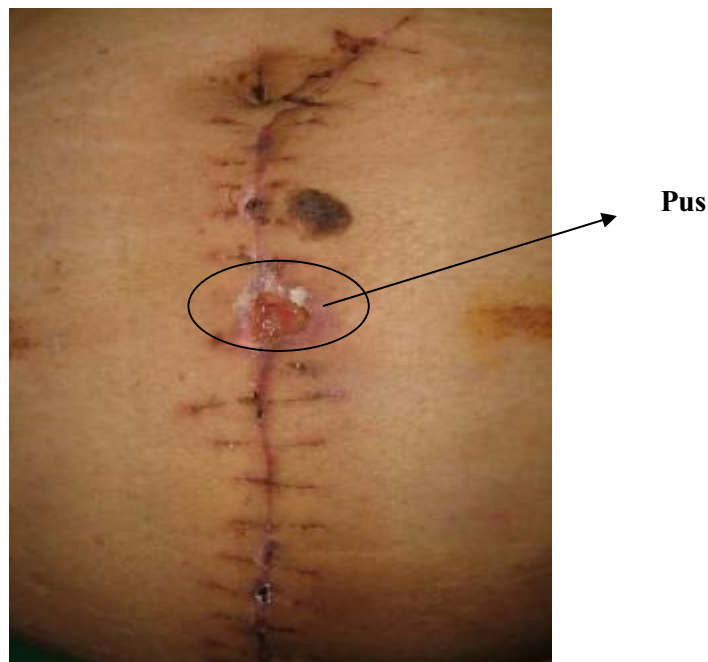
Pus adalah cairan hasil proses peradangan yang terbentuk dari sel-sel (leukosit) dan cairan encer yang dinamakan *liquor puris* : nanah

Macam-macam pus adalah sebagai berikut :

- a. *Anchovory sauce pus* merupakan pus dengan warna kecoklatan yang terlihat pada abses lebar akibat amoeba.
- b. *Blue pus* nanah dengan warna kebiruan dan tampak pada beberapa infeksi supuratif tertentu; warna yang ditimbulkan ini disebabkan oleh adanya pigmen antibiotik (piosianin) yang dihasilkan oleh *Pseudomonas aeruginosa*.
- c. *Burowing pus* nanah yang tidak memiliki dinding pembatas tetapi meluas di antara bidang-bidang fasial dengan jangkauan yang cukup jauh.
- d. *Cheesy pus* nanah yang kental dan hampir padat.
- e. *Curdy pus* nanah yang bercampur bersama serpihan-serpihan menyerupai keju.

- f. *Green pus* merupakan nanah yang berwarna kehijauan.
  - g. *Laudable pus, pus laudandum* adalah nanah yang tak berbau berwarna kuning krem dan dihasilkan oleh jaringan granulasi yang sehat.
  - h. *Sanious pus* merupakan nanah yang mengandung darah, sering bersifat *Ichorous*, dan berbau busuk (Anonim, 2000).
6. Infeksi Luka Paska Operasi

Terdapat banyak perbedaan tentang definisi infeksi luka yang sesungguhnya. Definisi yang paling sempit adalah hanya luka yang mengeluarkan pus, dengan bakteri yang diidentifikasi dari biakan. Definisi yang lebih luas mencakup semua luka yang mengeluarkan pus, apakah hasil bakteriologi adalah positif atau tidak, luka yang dibuka oleh ahli bedah, dan luka yang dianggap oleh ahli bedah terinfeksi (Cameron, 1997).



Gambar 1. Gambar luka yang terinfeksi (mengandung Pus)  
(Paraton, 2005)

Klasifikasi luka menurut *The National Research Council*:

- a. Luka bersih : tidak ada peradangan, tidak ada kesalahan/pelanggaran dalam teknik aseptik selama pembedahan, dan tidak ada akses ke saluran nafas atau saluran cerna. Kolesistektomi, histerektomi, dan apendektomi tanpa tanda peradangan dimasukan dalam kategori bersih.
- b. Luka bersih tercemar : luka yang terjadi oleh prosedur pembedahan yang melibatkan akses ke saluran cerna atau nafas, tetapi tidak ada *spillage* (pencemaran, pengotoran) yang bermakna.
- c. Luka tercemar : terdapat tanda-tanda peradangan akut tanpa pembentukan pus, atau telah terjadi pencemaran yang nyata dari organ internal berongga. Suatu operasi yang sebenarnya bersih tetapi terjadi pelanggaran besar dalam teknik aseptik dan luka traumatik baru dianggap tercemar.
- d. Luka kotor : dijumpai pus atau perforasi organ interna. Luka traumatik yang lama juga dimasukan kategori ini

(Gould dan Brooker, 2003)

Insidensi luka secara keseluruhan adalah sekitar 5 sampai 10 persen di seluruh dunia dan tidak berubah selama satu dasawarsa yang lalu. Banyak faktor yang mempengaruhi perkembangan infeksi luka *post cooperativ*. Beberapa faktor langsung di bawah kendali ahli bedah dan berhubungan langsung dengan teknik bedah. Faktor lain adalah berhubungan dengan pasien (*host*) dan penyakit, dan efeknya pada infeksi luka dapat dimodulasi dengan keberhasilan yang terbatas. Sebagian besar infeksi luka menjadi jelas dalam

waktu 10 hari *pascaoperatif*, walaupun sebagian kecil dapat terlihat bertahun-tahun setelah intervensi luka (Cameron, 1997).

#### 7. Infeksi Luka Penderita Diabetes Melitus

Diabetes melitus adalah suatu gangguan kronis yang khususnya menyangkut metabolisme hidrat arang (glukosa) di dalam tubuh, tetapi metabolisme lemak dan protein juga terganggu. Dalam bahasa latin *diabetes* = penerusan, dan *mellitus* = manis madu. Penyebab diabetes melitus adalah kekurangan insulin (Tjay dan Rahardja, 2002).

Pada diabetes melitus defisiensi insulin menyebabkan hambatan transport asam amino ke dalam sel serta hambatan inkorporasi asam amino menjadi molekul protein. Selain itu glukoneogenesis bertambah, sehingga terjadi imbalan nitrogen negatif. Hal ini menyebabkan penurunan berat badan penderita diabetes yang tidak diobati. Selain itu daya tahan tubuh akan menurun karena pembentukan zat anti ikut terhambat. Hal inilah yang mengakibatkan timbulnya infeksi serta sulitnya penyembuhan infeksi pada penderita diabetes. Keadaan hiperglikemia dan glukosuria inilah yang menyebabkan darah dan urin menjadi medium sangat baik untuk pertumbuhan bakteri (Handoko dan Suharto, 2003).

Osteomielitis sekunder pada insufisiensi vaskuler biasanya khusus terjadi pada pasien diabetes melitus dan atau kerusakan vaskuler dan biasanya lokasinya spesifik di bagian bawah tangan dan kaki. Penyakit ini merupakan bahaya awal pada pasien yang sebelumnya mengalami keluhan trauma pada kulit (Southwick, 2003).



## 8. Isolasi dan Identifikasi Bakteri

### a. Pewarnaan Gram

Metode pewarnaan atau pengecatan Gram ditemukan oleh Cristian Gram pada tahun 1884. Berdasarkan sifat bakteri terhadap cat Gram, bakteri dapat digolongkan menjadi Gram positif dan Gram negatif

#### 1) Bakteri Gram positif

Bakteri Gram positif adalah bakteri yang pada pengecatan Gram tahan terhadap alkohol sehingga tetap mengikat cat pertama dan tidak mengikat cat kontras sehingga bakteri akan berwarna ungu.

#### 2) Bakteri Gram negatif

Bakteri Gram negatif adalah bakteri yang pada pengecatan Gram tidak tahan alkohol sehingga warna cat yang pertama dilunturkan dan bakteri akan mengikat warna kontras sehingga tampak warna merah (Indrayudha, dkk., 2006).

Ada beberapa teori tentang dasar perbedaan kedua golongan tersebut yaitu:

##### a) Teori Salton

Teori ini berdasarkan kadar lipid yang tinggi (20%) di dalam dinding sel bakteri Gram negatif. Zat lipid ini larut selama pencucian dengan alkohol. Pori-pori pada dinding sel membesar, sehingga zat warna yang sudah diserap mudah dilepaskan dan bakteri menjadi tidak berwarna.

Bakteri Gram positif mengalami denaturasi protein pada dinding selnya oleh pencucian dengan alkohol. Protein menjadi keras dan beku, pori-pori mengecil sehingga kompleks ungu kristal iodium dipertahankan dan bakteri berwarna ungu.

b) Teori Permeabilitas Dinding sel

Teori ini berdasarkan tebal-tipisnya lapisan peptidoglikan dalam dinding sel. Bakteri Gram positif mempunyai susunan dinding yang kompak dengan lapisan peptidoglikan yang terdiri dari 30 lapisan. Permeabilitas dinding sel kurang dan kompleks ungu kristal iodium tidak dapat keluar.

Bakteri Gram negatif mempunyai lapisan peptidoglikan yang tipis, hanya 1-2 lapisan dinding sel tidak kompak. Permeabilitas dinding sel lebih besar sehingga masih memungkinkan terlepasnya kompleks ungu kristal iodium (Indrayudha, dkk., 2006).

b. Isolasi dan Identifikasi Stafilokokus

Bahan pemeriksaan dapat diperiksa secara langsung yaitu dengan pengecatan Gram dan ditanam pada media agar darah, kemudian diinkubasikan pada 37<sup>0</sup> C selama 18-24 jam. Selanjutnya dilakukan identifikasi dan pengecatan Gram terhadap koloni yang tumbuh. Koloni stafilokokus berbentuk bulat, halus, cembung, garis tengah 1-3mm. Bila pengecatan Gram menunjukkan stafilokokus maka untuk identifikasi dapat dilakukan dengan tes koagulase dan manitol.

### 1) Uji Koagulase

Bertujuan untuk membedakan kemampuan koagulase positif (*Staphylococcus aureus*) dari bakteri stafilokokus yang negatif. Prinsip uji ini didasarkan atas kemampuan bakteri yang mengandung enzim koagulase sehingga dapat membekukan plasma (Hart and Shears, 2004).

*Staphylococcus aureus* mempunyai dua macam koagulase, yaitu:

- a) Koagulase terikat atau faktor penjendalan yang terikat pada dinding sel bakteri. Bila suspensi bakteri dicampur dengan plasma maka enzim tersebut dapat menggumpalkan fibrin yang ada di dalam plasma membentuk deposit pada permukaan selnya. Kemampuan ini diduga untuk menghindarkan sel dari serangan sel fagosit hospes. Dapat dideteksi dengan *slide test* (untuk uji cepat atau *screening*).
- b) Koagulase bebas adalah enzim ekstraseluler yang juga dapat menjendalkan fibrin. Dapat dideteksi dengan uji tabung yang memberikan hasil lebih baik dari pada *slide test* (Indrayudha, dkk., 2006).

### 2) Uji Manitol

Uji ini dapat digunakan untuk membedakan *Staphylococcus aureus* dan yang lain karena pada umumnya *Staphylococcus aureus* mampu memfermentasi manitol dalam keadaan anaerob, sedangkan spesies yang lain jarang.

Ada dua macam pemeriksaan uji manitol yaitu :

- a). Uji manitol yang dilakukan dengan cara menginokulasikan koloni bakteri pada media agar manitol di dalam tabung, dengan cara menusukan ke bawah sepanjang tabung, kemudian diinkubasikan pada 35<sup>0</sup>C selama 48 jam. Uji dinyatakan positif bila terjadi perubahan warna dari merah menjadi kuning pada bagian atas dan bawah tabung media tersebut.
- b). Uji manitol yang dilakukan dengan cara menggores bakteri pada agar garam manitol (*Manitol Salt Agar* = MSA) dan diinkubasikan pada 37<sup>0</sup>C selama 36 jam. Bila daerah disekitar koloni berwarna kuning menunjukkan bahwa bakteri tersebut adalah *Staphylococcus aureus* (Indrayudha, dkk., 2006).

## 9. Antibiotik

Antibiotik adalah zat yang dihasilkan oleh suatu mikroba yang mempunyai khasiat antimikrobal. Orang yang pertama kali menemukan antibiotik secara sintetik adalah Gratia dan Dath (tahun 1924) dengan menemukan *aktinomysetin* yang berasal dari *Actiniomycetes*. Sampai sekarang sudah ditemukan beribu-ribu antibiotik, tetapi tidak semuanya digunakan untuk pengobatan (Entjang, 2003).

Menurut Chatim dan Soeharto (1993), antibiotik adalah suatu substansi kimia yang diperoleh dari, atau dibentuk oleh berbagai spesies mikroorganisme, yang dalam konsentrasi rendah mampu menghambat pertumbuhan mikroorganisme lainnya. Antibiotik ini berbeda dalam susunan

kimia dan cara kerjanya. Dari sekian banyak antibiotik yang ditemukan, hanya beberapa saja yang cukup tidak toksik untuk dapat dipakai dalam pengobatan.

Penggolongan antibiotik menurut spektrum aktivitasnya adalah :

- a. Antibiotik dengan spektrum luas, efektif terhadap Gram positif maupun Gram negatif, contoh turunan tetrasiklin, turunan amfenikol, turunan aminoglikosida, turunan makrolida, beberapa turunan penisilin, seperti ampicilin, amoksisilin, bakampisin, karbenisilin, hetasilin, pivampisin, sulbenisilin dan tikarsilin, dan sebagian besar turunan sefalosporin.
- b. Antibiotik yang aktivitasnya lebih dominan terhadap bakteri Gram positif, contohnya, basitrasin, eritromisin, sebagian besar turunan penisilin.
- c. Antibiotika yang aktivitasnya dominan terhadap bakteri Gram negatif, contohnya : kolistrin, polimiksin B sulfat dan sulfomisin.
- d. Antibiotik yang aktivitasnya lebih efektif terhadap Mycobacteriaceae (Antituberkulosis), contohnya streptomisin, kanamisin, sikloserin, rifampisin, viomisin, dan kapreomisin.
- e. Antibiotik yang aktif terhadap jamur (antijamur), contoh gliserofulfin dan antibiotika polien.
- f. Antibiotik yang aktif terhadap neoplasma (antikanker), contoh aktinomisin, bleomisin, daunorubisin, doksorubisin, mitomisin, dan mitramisin (Soekarjo, dkk., 2000)

Berdasarkan struktur kimianya antibiotik digolongkan menjadi :

a. Antibiotika Beta -Laktam.

Antibiotik beta-laktam dibagi menjadi tiga kelompok yaitu :

1) Turunan penisilin

Turunan penisilin adalah senyawa bakterisida dengan indeks terapeutik yang tinggi, bekerja lebih besar pada fase perbanyakkan mikroorganisme dibanding pada fase istirahat. Sering digunakan sebagai obat pilihan untuk pencegahan dan pengobatan infeksi yang disebabkan oleh bakteri tertentu (Soekarjo, dkk., 2000).

Penisilin menghambat pertumbuhan bakteri dengan jalan menghambat tahap spesifik dalam sintesis dinding sel bakteri. Dinding sel bakteri ini merupakan lapisan luar yang rigid (kaku), yang menutupi keseluruhan membran sitoplasma. Lapisan ini mempertahankan bentuk sel serta mencegah lisis sel yang mungkin terjadi akibat dari tekanan osmotik yang tinggi di dalam sel dibanding lingkungan luarnya (Katzung, 2004).

Penisilin yang banyak digunakan secara luas, antara lain adalah benzilpenisilin, penisilin G prokain, penisilin G benzatin, penisilin V, fenesitin, metisilin, nafsilin, oksasilin, kloksasilin, diklokaksilin, ampisilin, amoksisilin, karbesilin, sulbenisilin, dan tikarsilin (Soekarjo, dkk., 2000).

## 2) Sefalosporin

Sefalosporin seperti halnya antibiotik beta-laktam lain, mekanisme antimikroba sefalosporin ialah dengan menghambat sintesis dinding sel mikroba. Yang dihambat adalah reaksi transpeptidase tahap ketiga dalam rangkaian reaksi pembentukan dinding sel. Sefalosporin aktif terhadap kuman Gram positif maupun Gram negatif, tetapi spektrum antimikroba masing-masing derivat bervariasi (Istiantoro dan Gan, 1995).

- a) Sefalosporin generasi pertama, kelompok ini termasuk *cefadoksil*, *cefazolin*, *cephalexin*, *cephalotin*, *cepapirin*, dan *cepradin*.
- b) Sefalosporin generasi dua, anggota kelompok ini meliputi *cefaclor*, *cefamandole*, *cefonicid*, *cefuroxim*, serta *cephamycin*.
- c) Sefalosporin generasi ketiga, agen-agen generasi ketiga meliputi *cefoperazone*, *cefotaxime*, *ceftazidim*, *ceftizoxime*, *ceftriaxone*, *cefixime*, *ceprodoxim proxetil*, *ceftributen*, dan *maxalactam*.
- d) Sefalosporin generasi keempat, *cefepime* merupakan suatu contoh dari golongan ini (Katzung, 2004).

## 3) Beta-Laktam nonklasik

Beta-laktam nonklasik adalah antibiotik yang mengandung cincin beta-laktam yang kadang-kadang bergabung dengan cincin lain yang terdiri dari 5 atau 6 atom. Dibanding dengan turunan penisilin atau sefalosporin, strukturnya mempunyai gambaran dasar yang berbeda demikian pula sifat biologisnya. Beta-laktam dibagi menjadi lima

kelompok, yaitu turunan asam amidopenisilinat, turunan asam penisilinat, karbapenem, oksapenem, dan beta-laktam monosiklik (Soekarjo, dkk., 2000).

b. Turunan Amfenikol

Turunan amfenikol adalah antibiotik golongan kloramfenikol dan senyawa sintetik analognya. Amfenikol merupakan senyawa bakteriostatik dengan spektrum luas, bersifat mudah larut dalam lemak sehingga mudah menembus sel bakteri. Mekanisme kerja antibiotik turunan amfenikol yaitu dengan menghambat biosintesis protein pada perpanjangan rantai asam amino, yaitu dengan menghambat ikatan peptida (Soekarjo, dkk., 2000)

c. Tetrasiklin

Golongan tetrasiklin menghambat sintesis protein bakteri pada ribosomnya. Paling sedikit terjadi dua proses dalam masuknya antibiotik ke dalam ribosom bakteri Gram negatif, pertama yang disebut dengan difusi pasif melalui kanal hidrofilik, kedua ialah sistem transport aktif. Setelah masuk ke dalam sel bakteri, maka antibiotik berikatan dengan ribosom 30S dan menghalangi masuknya kompleks tRNA-asam amino pada lokasi asam amino (Setiabudy dan Kunardi, 1995).

Pada umumnya tetrasiklin tidak digunakan untuk pengobatan infeksi yang disebabkan oleh streptokokus karena ada obat lain yang lebih efektif yaitu penisin G, eritromisin, sefalosporin, kecuali doksisisilin yang digunakan untuk pengobatan sinusitis pada orang dewasa yang disebabkan



oleh strain *pneumoniae* dan *Str pyogenes*. Banyak strain *Staphylococcus aureus* yang resisten terhadap tetrasiklin (Setiabudy dan Kunardi, 1995).

d. Aminoglikosida

Aminoglikosida adalah antibiotik dengan struktur kimia yang bervariasi, mengandung basa deoksistreptamin dan streptidin dan gula amino 3-aminoglukosa, 6-aminoglukosa, 2,6-diaminoglukosa, garosamin, D-glukosamin, L-N-metil glukosamin, neosamin dan purpurosamin. Pada umumnya merupakan senyawa bakterisid, dapat menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif dan Gram negatif, serta efektif terhadap mikrobakteri. Turunan aminoglikosida yang sering digunakan antara lain adalah streptomisin, kanamisin, gentamisin, neomisin, tobramisin, amikasin, netilmisin, dibekasin, dan spektinomisin (Soekarjo, dkk., 2000).

e. Makrolida

Antibiotik golongan makrolida mempunyai persamaan yaitu terdapatnya cincin lakton yang besar dalam rumus molekulnya (Setiabudy, 1995). Makrolida merupakan suatu kelompok senyawa yang berhubungan erat dengan ciri suatu cincin lakton (biasanya terdiri atas 14 atau 16 atom) dimana terkait gula-gula deoksi. Obat prototipenya, eritromisin, yang terdiri dari dua belahan gula yang terkait pada cincin lakton 14 atom, diambil dari *Streptomyces erytheus* pada tahun 1952 (Katzung, 2004).

f. Sulfonamid

Mikroorganisme yang peka membutuhkan PABA ekstraseluler untuk membentuk *dihydrofolic acid*, suatu langkah penting dalam produksi

purin dan sintesis asam nukleat. Sulfonamid menghambat pertumbuhan dengan cara menghambat sintesis asam folat secara reversibel. Oleh karena itu sulfonamid merupakan bakteriostatik bukan bakterisid (Katzung, 2004).

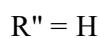
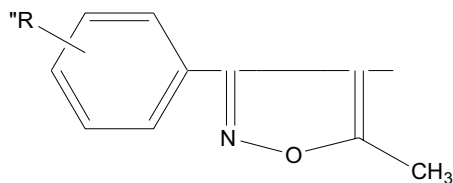
g. Quinolon

Pada tahun 1980, diperkenalkan golongan kuinolon baru dengan atom fluor pada cincin kuinolon (karena itu juga dinamakan fluorokuinolon). Perubahan struktur yang dramatis ini meningkatkan daya antibakterinya, melebarkan spektrum antibakteri, memperbaiki penyerapan di saluran cerna, serta memperpanjang masa kerja obat. Golongan fluorokuinolon dapat digunakan untuk infeksi sistemik. Yang termasuk golongan ini adalah siprofloksasin, enokasin, ofloksasin, pefloksasin dan norfloksasin (Setiabudy, 1995).

Dalam penelitian ini dipakai 5 macam antibiotik yaitu oksasilin, sefotaksim, imipenem, gentamisin, dan siprofloksasin.

1) Oksasilin

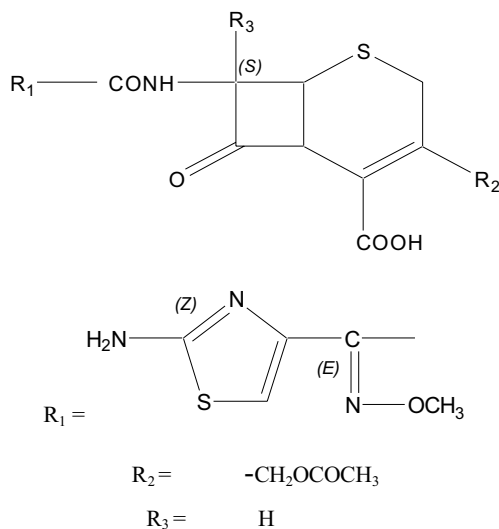
Oksasilin Na adalah turunan penisilin yang tahan terhadap asam dan tahan terhadap enzim penisilase. Adanya gugus 3-fenil dan 5-metil pada cincin isosaksosil dapat mencegah pengikatan dengan sisi aktif beta-laktamase dan relatif stabil terhadap hidrolisis asam sehingga dapat diberikan secara oral dengan efek cukup baik. Spektrum antibakterinya serupa dengan penisilin G, digunakan untuk pengobatan infeksi stafilokoki yang tahan penisilin G (Soekarjo, dkk., 2000).



**Gambar 2. Struktur antibiotik oksasilin**

## 2) Sefotaksim

Sefotaksim merupakan derivat-thiazolid (cincin-5 dengan atom N dan S) ini dari gen 3 (1980) mempunyai sifat antilaktamase kuat dan khasiat antipseudomonas sedang (Tjay dan Raharja, 2002). Obat ini sangat aktif terhadap berbagai kuman Gram positif dan Gram negatif aerobik. Obat ini efektif untuk pengobatan meningitis oleh bakteri Gram negatif (Istiantoro dan Gan, 1995).



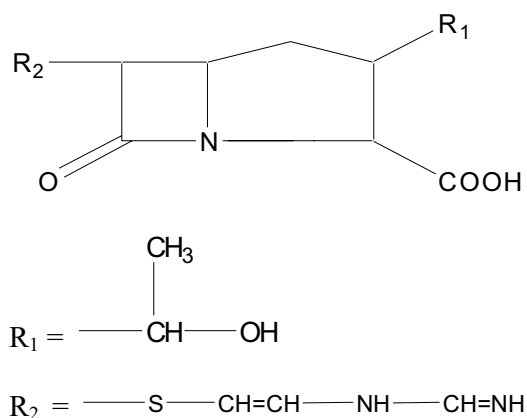
**Gambar 3. Struktur antibiotik sefotaksim**

Sefotaksim termasuk dalam antibiotik sefalosporin generasi ketiga. Aktivitas bakteriosidalnya sama seperti sefamandol namun memiliki

spektrum aktivitas yang lebih besar. Sefotaksim lebih stabil terhadap hidrolisis sebagian besar beta-laktamase dan aktivitasnya yang lebih besar dalam melawan bakteri Gram negatif daripada sefalosporin generasi pertama maupun sefalosporin generasi kedua. Terhadap bakteri Gram positif sefotaksim aktif melawan *Streptokokus* dan *Stafilokokus*. Aktif melawan *Staphylococcus aureus* termasuk strain penghasil penisilase tetapi tidak untuk MRSA (Metisilin Resisten *Staphylococcus aureus*) (Parfitt, 1999).

### 3) Imipenem

Karbapenem adalah analog penisilin alami, yaitu atom S pada cincin tiazolidin diganti dengan ikatan rangkap dan gugus metilen (Soekarjo, dkk., 2000). Secara struktural, karbapenem, terkait dengan antibiotik beta-laktam. Imipenem dan meropenem tersedia. Imipenem mempunyai struktur luas dengan aktivitas yang baik terhadap berbagai batang Gram negatif, organisme-organisme Gram positif, serta anaerob (Katzung, 2004).



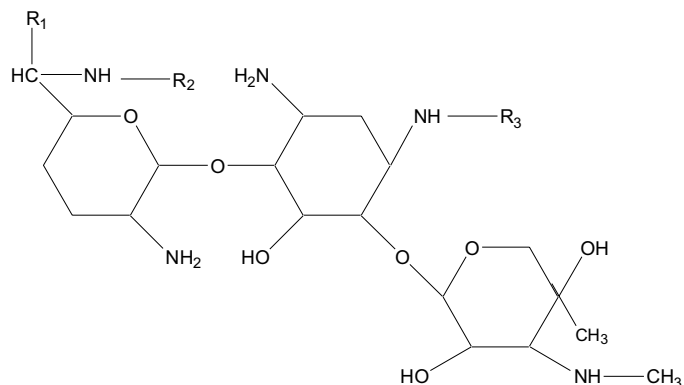
**Gambar 4. Struktur antibiotik Imipenem**

Imipenem bekerja secara bakterisidal dan mempunyai aksi yang sama seperti penisilin dengan cara menghambat sintesis dinding sel. Imipenem memiliki spektrum yang sangat luas termasuk aktivitasnya pada bakteri Gram positif dan Gram negatif aerob dan anaerob. Imipenem stabil terhadap hidrolisis oleh beta-laktamase yang dihasilkan oleh sebagian besar spesies bakteri.

Sebagian besar kokus Gram positif sensitif terhadap Imipenem termasuk sebagian besar streptokokus, stafilokokus penghasil penisilase dan stafilokokus non penisilase, walaupun aktivitasnya terhadap MRSA bervariasi (Parfitt, 1999).

#### 4) Gentamisin

Gentamisin merupakan *aminoglikoside* yang diisolasi dari *Micromonospora purpurea*. Zat ini aktif terhadap organisme Gram positif dan Gram negatif serta banyak sifatnya yang menyerupai aminoglikosid yang lain. Gentamisin sulfat (2-10 µg/ml) secara *in vitro* menghambat rantai stafilokoki dan coliform serta bakteri-bakteri Gram negatif lainnya. Secara tersendiri agen ini aktif, namun juga sebagai pendamping sinergik dengan antibiotika beta-laktam terhadap *pseudomonas*, *proteus*, *enterobacter*, *klebsiela*, *serratia*, *stenotropomonas*, dan strain-strain Gram negatif lainnya yang kemungkinan resisten terhadap beragam antibiotik lain (Katzung, 2004).

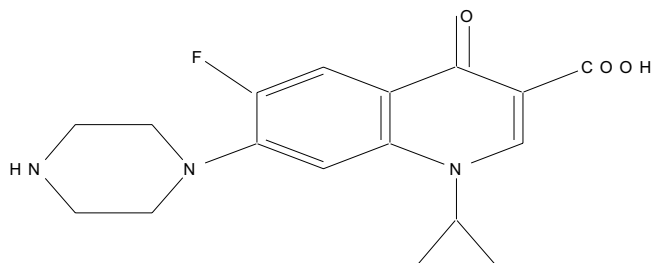


**Gambar 5. Struktur antibiotik gentamisin**

Gentamisin sistemik dalam keadaan tertentu digunakan pula terhadap gonore dan infeksi *Staphylococcus aureus*. Sedapat mungkin gentamisin sistemik hanya diterapkan dalam infeksi yang berat saja. Penggunaan gentamisin secara topikal khususnya dalam lingkungan rumah sakit perlu dibatasi sedapat mungkin untuk menghambat perkembangan resistensi kuman-kuman sensitif (Gan dan Gan, 1995)

##### 5) Siprofloksasin

Penggunaan siprofloksasin terutama pada infeksi enterik dan infeksi saluran kencing dengan kombinasi. Agen yang baru juga terbukti ampuh untuk pengobatan saluran nafas, kulit, jaringan lunak, tulang sendi, serta berhubungan dengan penularan seksual (Shulman, dkk., 1994).



**Gambar 6. Struktur antibiotik siprofloksasin**

Siprofloksasin memiliki aktivitas bakterisidal dan mempunyai aktivitas dengan cara menghambat subunit A dari DNA gyrase (topoisomerase) yang mempunyai peran penting dalam reproduksi DNA. Siprofloksasin mempunyai spektrum aktivitas yang lebih lebar dan secara *in vitro* lebih poten dibandingkan dengan quinolon non fluoronasi asam nalidiksilat. Aktivitasnya akan berkurang pada medium asam. Terhadap Gram positif siprofloksasin aktif melawan stafilocokus yang memproduksi penisilase dan strain non penisilase dan sebagian juga mampu melawan MRSA. Streptococcus, khususnya *Streptococcus pneumonia* dan *Enterococcus* kurang rentan. Bakteri Gram positif lainnya yang sensitif terhadap siprofloksasin secara *in vitro* adalah *Corynebacterium Spp*, dan *Listeria monocytogenes* (Parfitt, 1999).

#### 10. Resistensi

Resistensi sel mikroba ialah suatu sifat tidak terganggunya kehidupan sel mikroba oleh antimikroba. Sifat ini dapat merupakan suatu mekanisme alamiah untuk bertahan hidup (Setiabudi dan Gan, 1995).

Asal mula resistensi biasa dibedakan secara nongenetik atau genetik:

##### 1) Resistensi Secara Genetik

Sebagian besar mikroba yang resisten terhadap obat muncul akibat perubahan genetik dan dilanjutkan serangkaian proses seleksi oleh obat antimikroba.

a) Resistensi Kromosomal

Ini terjadi akibat mutasi spontan dalam lokus yang mengontrol kepekaan obat antimikrobia yang diberikan. Adanya antimikrobia bertindak sebagai mekanisme selektif yakni membunuh bakteri yang peka dan membiarkan tumbuh bakteri yang resisten.

b) Resistensi Ekstra Kromosomal

Bakteri seringkali berisi elemen genetik ekstrakromosomal yang dinamakan plasmid. Faktor R adalah kelompok plasmid yang membawa gen resistensi terhadap satu atau beberapa obat antimikrobia dan logam berat. Gen plasmid untuk resistensi antimikrobia mengontrol pembentukan enzim yang mampu merusak antimikrobia. Materi genetik dan plasmid dapat ditransfer dengan transduksi, transformasi, dan konjugasi.

c) Resistensi Silang

Mikroorganisme resisten terhadap obat tertentu dan mungkin juga resisten terhadap obat lain yang mekanisme sama. Kemiripan antar antimikrobia seperti kedekatan struktur kimia (misalnya berbagai macam aminoglikosida) atau yang mempunyai kesamaan ikatan atau mekanisme kerja (misalnya makrolida-linkomisin). Pada obat golongan tertentu, kesamaan terletak pada inti aktif kimiawi (misalnya tetrasiklin) bisa diduga akan sering terjadi resistensi silang (Jawetz, dkk., 2001).



## 2) Resistensi Secara Nongenetik

Untuk bisa bekerja, antimikroba biasanya membutuhkan keadaan di mana bakteri bereplikasi. Karenanya mikroorganisme dengan metabolisme nonaktif (*non multiplying*) bersifat resisten terhadap obat. Namun keturunannya peka secara sempurna. Organisme dalam keadaan ini resisten terhadap pengobatan dan tidak dapat dibasmi dengan obat. Namun jika mereka mulai berkembangbiak (misalnya setelah terbebas dari penekanan immunitas selular pada pasien), bakteri ini akan peka kembali terhadap obat yang sama (Jawetz, dkk., 2001).

## 11. Uji Aktivitas Antibakteri

Pengujian terhadap aktivitas antibakteri dapat dilakukan dengan berbagai cara, yaitu :

- a. Agar difusi, media yang dipakai adalah media Mueller Hinton. Pada metode difusi ada beberapa cara :

### a) Cara Kirby Bauer

Cara Kirby Bauer dapat dilakukan dengan cara mengambil beberapa koloni kuman yang telah ditumbuhkan selama 24 jam, yang kemudian disuspensikan ke dalam 0,5 ml BHI cair, selanjutnya dilakukan inkubasi 5-8 jam pada 37<sup>0</sup> C. Suspensi tersebut ditambah aquadest steril hingga kekeruhan tertentu sesuai dengan standar konsentrasi bakteri 10<sup>8</sup> CFU per ml. Kemudian dioleskan pada permukaan media hingga rata. Kemudian diletakan kertas samir (disk)

yang mengandung antibakteri diatasnya, inkubasi dilakukan pada 37<sup>0</sup> C selama 18-24 jam.

Hasilnya dibaca :

a) *Zone radikal* yaitu suatu daerah disekitar disk di mana sama sekali tidak ditemukan adanya pertumbuhan bakteri. Potensi antibakteri diukur dengan mengukur diameter zona radikal.

b) *Zone iradikal* yaitu suatu daerah, disekitar disk dimana pertumbuhan bakteri dihambat oleh antibakteri, tetapi tidak dimatikan.

b) Cara Sumuran

Cara sumuran dapat dilakukan dengan cara mengambil beberapa koloni kuman yang telah ditumbuhkan Selama 24 jam, yang kemudian disuspensikan ke dalam 0,5 ml BHI cair, selanjutnya dilakukan inkubasi 5-8 jam pada 37<sup>0</sup> C. Suspensi tersebut ditambah aquadest steril hingga kekeruhan tertentu sesuai dengan standart konsentrasi bakteri 10<sup>8</sup> CFU per ml. Kemudian dioleskan pada permukaan media hingga rata. Media agar dibuat sumuran ditetaskan larutan antibakteri, diinkubasi pada 37<sup>0</sup> C selama 18-24 jam. Hasilnya dibaca seperti cara *Kirby Bauer*.

c) Cara *Pour Plate*

Cara *Pour Plate* dapat dilakukan dengan cara mengambil beberapa koloni kuman yang telah ditumbuhkan selama 24 jam, yang kemudian disuspensikan ke dalam 0,5 ml BHI cair, selanjutnya

dilakukan inkubasi 5-8 jam pada 37<sup>0</sup> C. Suspensi tersebut ditambah aquadest steril hingga kekeruhan tertentu sesuai dengan standar konsentrasi bakteri 10<sup>8</sup> CFU per ml. Suspensi bakteri diambil sebanyak satu mata ose dan dimasukkan ke dalam 4 ml agar base 1,5% yang mempunyai suhu 50<sup>0</sup> C. Setelah suspensi kuman tersebut homogen, dituang pada media agar Mueller Hinton, ditunggu sebentar sampai agar tersebut membeku, diletakan disk diatas media dan dieramkan selama 15-20 jam dengan temperatur 37<sup>0</sup> C. Hasil dibaca sesuai standar masing-masing antibakteri.

b. Dilusi cair/dilusi padat

Pada prinsipnya antibakteri diencerkan sampai diperoleh beberapa konsentrasi. Pada dilusi cair, masing-masing konsentrasi obat ditambah suspensi kuman dalam media. Sedangkan pada dilusi padat tiap konsentrasi obat dicampur dengan media lalu ditanami bakteri. Metode dilusi cair adalah metode untuk menentukan konsentrasi minimal dari suatu antibakteri yang dapat menghambat atau membunuh mikroorganisme. Konsentrasi terendah yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri ditunjukkan dengan tidak adanya kekeruhan disebut Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) atau *Minimum Inhibitory Concentration* (Indrayudha, dkk., 2006).

## 12. Sterilisasi

### a. Penggunaan Antiseptik dan Desinfektan

Desinfektan merupakan agen kimiawi yang dapat menghambat atau membunuh mikroorganisme. Antiseptik merupakan agen yang dapat mengdesinfeksi mikroba dengan toksisitas cukup rendah terhadap sel inang (*host*) sehingga agen ini dapat langsung digunakan pada kulit, membran mukosa atau luka (Katzung, 2004).

Alkohol merupakan agen yang paling efektif dan dapat diandalkan untuk sterilisasi dan desinfeksi. Alkohol mendenaturasi protein dengan jalan dehidrasi, dan juga merupakan pelarut lemak. Oleh karenanya, membran sel akan dirusak dan enzim-enzim akan dinonaktifkan oleh alkohol. Ada tiga jenis alkohol yang dipergunakan yaitu metanol ( $\text{CH}_3\text{OH}$ ), etanol ( $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$ ), dan isopropanol ( $((\text{CH}_3)_2\text{CHOH})$ ). Yang dipergunakan dalam praktek adalah alkohol 70%-80% dalam air. Konsentrasi di atas 90% atau di bawah 50% biasanya kurang efektif (Chatim dan Soeharto, 1993).

### b. Pemanasan Basah

Teknik sterilisasi yang paling pasti adalah penggunaan uap air disertai dengan tekanan yang dilakukan dalam alat yang disebut autoklaf. Autoklaf memiliki suatu ruangan yang mampu menahan tekanan di atas 1 atm. Alat-alat atau bahan-bahan yang akan disterilkan dimasukkan ke dalam ruangan ini. Setelah udara dalam ruangan ini digantikan oleh uap air, maka ruangan ini ditutup rapat sehingga tekananya akan meningkat,

yang juga akan diikuti oleh kenaikan suhu. Dengan cara ini akan dapat dicapai tekanan  $1\frac{1}{2}$  atm dan suhu  $121^0$  C. Dengan tekanan dan suhu seperti ini, dalam waktu 10-12 menit, semua bentuk hidup berikut spora akan dimatikan (Chatim dan Soeharto, 1993)

c. Pemanasan Kering

Pemanasan kering dapat dilakukan dengan cara :

1) Pembakaran (*incineration*)

Pembakaran merupakan cara sterilisasi yang 100% efektif, tetapi cara ini terbatas penggunaannya. Cara ini bisa dipergunakan untuk mensterilkan alat penanam kuman (ose), yaitu dengan membakarnya hingga pijar. Dengan cara ini semua bentuk hidup akan dimatikan. Pembakaran juga dilakukan terhadap bangkai binatang percobaan yang mati.

2) Sterilisasi dengan udara panas (*hot air sterilization*)

Alat-alat yang disterilkan dengan cara ini, ditempatkan di dalam oven dimana suhunya dapat mencapai  $160-180^0$  C. Caranya adalah dengan memanaskan udara dalam oven tersebut (dengan gas atau listrik). Oleh karena daya penetrasi panas kering tidak sebaik panas basah, maka waktu yang diperlukan pada sterilisasi cara ini, lebih lama yaitu selama 1-2 jam. Sterilisasi dengan udara panas ini baik dipergunakan untuk mensterilkan alat-alat gelas seperti piring petri, pipet, tabung reaksi, labu dan sebagainya (Chatim dan Soeharto, 1993).

### 13. Media

Penggunaan media sangat penting dalam pemeriksaan mikrobiologi baik untuk isolasi, identifikasi maupun differensiasi. Media juga digunakan untuk membawa material dari rumah sakit atau tempat lain ke laboratorium agar kuman dalam material tersebut tetap hidup sesampainya di laboratorium. Media adalah bahan yang terdiri dari campuran zat makanan yang diperlukan untuk menumbuhkan suatu mikroorganisme dalam rangkaian isolasi, memperbanyak perhitungan dan pengujian sifat fisiologi suatu mikroorganisme (Indrayudha, dkk., 2005).

Teknik yang digunakan dan tipe medium yang dipilih tergantung pada sifat penelitian. Pada umumnya ada tiga situasi dalam memilih media yang dapat diterima :

- a. Seseorang berkepentingan untuk memperbanyak sel spesies tertentu. Mikroorganisme yang teramati secara mikroskopik dan yang tumbuh dalam lingkungan alami dapat terbukti sangat sukar untuk tumbuh secara murni pada media buatan. Namun pada umumnya medium yang sesuai dapat diciptakan melalui produksi secara hati-hati kondisi yang ditemukan dalam lingkungan alami mikroorganisme.
- b. Seseorang berkepentingan untuk menentukan jumlah dan tipe organisme yang ada pada bahan yang akan diberikan. Bahan alami tertentu mengandung berbagai lingkungan mikro yang berbeda masing-masing menyediakan tempat untuk spesies yang berbeda. Untuk alasan tersebut,

adalah biasa menanam contoh bahan-bahan menggunakan sebanyak mungkin media dan kondisi inokulasi yang berbeda.

- c. Seseorang menginginkan mengisolasi mikroorganisme dari sumber alami. Pada saat mencari tipe tertentu suatu mikroorganisme pada bahan alami adalah menguntungkan untuk menemukan mikroorganisme yang didapatkan pada media differensial. Medium differensial adalah medium yang dapat menumbuhkan koloni mikroorganisme dengan ciri tertentu (Jawetz, dkk., 2001).

Syarat-syarat media untuk mendapatkan suatu lingkungan kehidupan yang cocok bagi pertumbuhan bakteri adalah

- 1) Susunan makanan

Susunan makanan yang diperlukan untuk pertumbuhan harus mempunyai :

- a) Air
- b) Sumber karbon
- c) Sumber Nitrogen
- d) Mineral
- e) Vitamin
- f) Gas (Indrayudha, dkk., 2006).

- 2) Tekanan Osmose

Mengingat sifat-sifat bakteri, juga sama seperti sifat-sifat sel yang lain terhadap tekanan osmose, maka bakteri untuk pertumbuhannya memerlukan media yang isotonis. Bila media tersebut hipotonis maka bakteri dalam media tersebut akan mengalami *plasmoptysis*, sedangkan

jika media tersebut hipertonis maka akan terjadi *plasmolysis* (Indrayudha, dkk., 2006).

### 3) Derajat Keasaman (pH)

Umumnya media membutuhkan pH sekitar netral. Namun ada bakteri tertentu yang membutuhkan pH yang sangat alkalis yaitu vibrio, yang membutuhkan pH sekitar 8-10 untuk pertumbuhan yang optimal (Indrayudha, dkk., 2006).

### 4) Temperatur

Untuk mendapatkan pertumbuhan yang optimal, bakteri membutuhkan temperatur tertentu. Umumnya untuk bakteri yang patogen membutuhkan temperatur 37<sup>0</sup> C, sesuai dengan temperatur tubuh. Namun ada bakteri patogen yang membutuhkan sekitar 42<sup>0</sup> C yaitu *Camphylobacter* (Indrayudha, dkk., 2006).

### 5) Sterilitas

Sterilitas media merupakan suatu syarat yang penting. Adalah sangat tidak mungkin kita dapat melakukan pemeriksaan mikrobiologis apabila pada media yang digunakan tidak steril, karena tidak dapat dibedakan dengan pasti apakah bakteri tersebut berasal dari material yang diperiksa atau hanya kontaminan. Untuk mendapatkan suatu media yang steril maka setiap tindakan (pengambilan media, penuangan media, dan lain-lain) serta alat-alat yang digunakan (tabung, petri, dan lain-lain) harus steril dan dikerjakan secara aseptik (Indrayudha, dkk., 2006).



## Penggolongan media

Macam-macam media menurut penggolongannya antara lain :

### a. Penggolongan media menurut penggolongannya

#### 1) Media kaya

Media kaya digunakan untuk mendapatkan pertumbuhan jenis bakteri tertentu yang tidak dapat tumbuh pada media sederhana misalnya : *Gonococcus*, *bakteriodes*, *fusobacterium*, *Clostridium* dan lain-lain. Contohnya : media agar darah, Brucella agar darah, agar coklat, kaldu dan lain-lain.

#### 2) Media eksklusif

Media ini dibuat sedemikian rupa sehingga hanya bakteri tertentu yang dapat hidup. Hal ini dilakukan dengan :

##### 1. Membuat pH sangat alkalis

Misalnya : media cair alkali peptone yang digunakan untuk isolasi vibrio.

##### 2. Menambahkan antibiotik tertentu

Misalnya : menambahkan Kloramfenikol untuk sabouroud, kanamisin pada brucella agar darah untuk bakteri anaerob tertentu.

#### 3) Media selektif

Media ini mempunyai susunan sedemikian rupa sehingga kuman yang dicari akan tumbuh dengan koloni yang khas sedang koloni yang lain kurang khas.

#### 4) Media pembiakan

Media ini digunakan bilamana dalam suatu material adanya kuman yang dicari dalam jumlah yang sedikit, selain itu juga terdapatnya kuman-kuman lain dalam jumlah yang sangat besar. Oleh karena itu dibutuhkan media pembiakan dimana kuman yang dicari tumbuh subur sedangkan kuman yang lain akan terhambat pertumbuhannya (Indrayudha, dkk., 2006).

#### b. Media transport

Media transportasi harus digunakan untuk mengirimkan biakan pada laboratorium bila spesimen tidak dapat ditanamkan dalam beberapa menit sesudah pengumpulan. Media transportasi tidak berisi karbohidrat atau sumber-sumber nitrogen yang perlu untuk replikasi. Dengan demikian mencegah pertumbuhan berlebihan (*overgrowth*) oleh kontaminasi flora pada mikroorganisme. Media transportasi adalah buffer, dan kebanyakan mempunyai agar yang cukup untuk menjadi setengah padat dan dapat berisi macam-macam senyawa yang dirancang bangun untuk mendukung ketahanan hidup mikroorganisme spesifik. Tujuan utama dari medium ini adalah untuk melindungi mikroorganisme dari kematian karena kering dan menghambat pertumbuhan berlebihan oleh kontaminan (Shulman dan Sharon, 1994).